

Über den Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalt der Bienen (*Apis mellifica*)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

vorgelegt

von

Martha John

aus

Überlingen

Juni 1957

Berichterstatter:

Prof. Dr. RUTH BEUTLER

Prof. Dr. Dr. KARL VON FRISCH

Tag der mündlichen Prüfung: 31. Juli 1957

Sonderdruck aus

Zeitschrift für vergl. Physiologie, Bd. 41, Heft 2, S. 204—220 (1958)

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg

Aus dem Zoologischen Institut der Universität München

ÜBER DEN GESAMTKOHLLENHYDRAT-
UND GLYKOGENGEHALT DER BIENEN (*APIS MELLIFICA*)*

Von

MARTHA JOHN

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. März 1958)



* Die Arbeit wurde durch Hilfe der Forschungsgemeinschaft wesentlich gefördert.

Inhaltsverzeichnis		Seite
A.	Einleitung und Fragestellung	204
B.	Methodik	205
	I. Biochemische Methodik	205
	II. Histochemische Methodik	207
C.	Der normale Glykogengehalt der Arbeiterin von <i>Apis mellifica</i>	207
D.	Einflüsse, die die Höhe des Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalts bestimmen	208
	I. Alter	208
	II. Jahreszeit	210
	III. Tätigkeit	212
	IV. Glykogengehalt der einzelnen Organe	214
	V. Präparation der Organe	214
E.	Einfluß des Alters auf Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalt bei Drohnen	215
F.	Vergleichsanalysen auf Glykogen- und Gesamtkohlenhydrat bei 1 Tage alten Königinnen, Drohnen und Arbeiterinnen	215
G.	Histochemische Hinweise über die Lagerung des Glykogens im Darmsystem und der Muskulatur	216
	I. Darmsystem	216
	II. Honigblasenwand	217
	III. Thoraxmuskulatur	217
	Zusammenfassung	218
	Literatur	219

A. Einleitung und Fragestellung

Nachdem STRAUS (1911) und später R. M. MELAMPI und OLSAN (1940) den Gesamtkohlenhydratgehalt und Glykogengehalt der Arbeitsbienen und Drohnen während ihrer Entwicklungsstadien bestimmt hatten, lag es nahe, diese Untersuchungen auch auf die Imagines zu erweitern. Als Ergebnisse der erwähnten Arbeiten zeigten sich quantitative Veränderungen im Glykogengehalt und Gesamtkohlenhydratgehalt auf Grund morphologischer Veränderungen im Larven- und Puppenstadium,

und zwar bei Arbeiterinnen und Drohnen. Mit den folgenden Versuchen sollte die Frage behandelt werden, in welcher Weise der Glykogengehalt und Gesamtkohlenhydratgehalt von verschiedenem Alter und verschiedener Tätigkeit der Imagines abhängt.

BEUTLER (1939) nahm an, daß dem Glykogen gegenüber dem im Honigmagen gespeicherten Zucker als Speicherstoff der Flugbiene eine geringere Bedeutung zukommt. Nimmt das Glykogen tatsächlich eine untergeordnete Rolle im Kohlenhydratstoffwechsel der Imago ein?

Über eine genaue Bestimmung des Glykogengehalts und Gesamtkohlenhydratgehalts der Bienenimagines während verschiedener Altersstadien und Tätigkeiten liegt keine Literatur vor. BENAZZI (1941) gibt einen Überblick über die Verteilung des Glykogens bei den Wirbellosen. Glykogen findet sich nach seinen Angaben in allen Organen, jedoch vorwiegend im Bindegewebe und im Darmepithel. Er führt die Schwankungen des Blutzuckerspiegels, besonders das völlige Absinken bei dem Hungern, auf eine Verzehrerung dieser Körperdepots zurück.

CHADWICK (1940) fand bei seinen Versuchen an *Drosophila*, daß der Sauerstoffverbrauch etwa dem Quadrat der Flügelschlagzahl proportional ist (10920 Flügelschläge in der Minute). Je Flügelschlag stellte er eine Sauerstoffveratmung von 2×10^{-4} cm³ je Gramm Muskulatur fest. Diese Zahl entspricht nach seinen Berechnungen der Oxydation von $2,5 \times 10^7$ g Glykogen.

WILLIAMS (1943) stellt fest, daß bei Fliegen (*Drosophila*) der Glykogengehalt zur Aufrechterhaltung der Flugintensität besonders wichtig ist, da bei langen Flugzeiten das Glykogen sowohl im ganzen Tier als besonders im Thorax abnimmt.

WIGGELSWORTH (1950) gibt in seiner zusammenfassenden Darstellung des Kohlenhydratstoffwechsels der Insekten einige Hinweise hinsichtlich der Glykogenlokalisation im Insektenorganismus und erörtert allgemein den Kohlenhydratstoffwechsel der Insekten.

Frau Professor BEUTLER danke ich sehr für die Anregung zu dieser Arbeit und für die großzügige Unterstützung.

B. Methodik

I. Biochemische Methodik

Um nur intrazelluläres Glykogen und Gesamtkohlenhydrat zu erfassen, habe ich die Bienen zunächst durch leichten Druck mit dem Zeigefinger auf das Abdomen gezwungen, ihren Honigblaseninhalt auszuspucken. Der Honigmagen wurde dann geöffnet und mehrmals in 80%igem Äthylalkohol ausgewaschen. Hierauf trennte ich den Darm durch Ziehen am vorletzten Abdominalsegment von den übrigen Organen und öffnete ihn durch je einen Querschnitt durch die Mitte des Mittel- und Enddarms. Den Inhalt schob ich dann mit einer flach auf dem Darm liegenden Präpariernadel aus den beiden Öffnungen heraus. Hernach wurde der Darm aufgeschlitzt und ebenfalls mehrmals in 80%igem Alkohol ausgewaschen. Eventuelle postmortale Veränderungen konnten dadurch verhütet werden, daß die Bienen sofort nach Präparation mit dem Darmsystem in glattes Papier gewickelt und in festes Kohlendioxyd gebracht wurden.

Für je einen Gesamtkohlenhydrat- und Glykogenwert machte ich 10 Einzelbestimmungen; je Einzelbestimmung verwendete ich ein Tier. Für die Organbestimmungen verwendete ich je Einzelbestimmung 5 Organe.

1. Glykogenbestimmung. Das Glykogen wurde nach HANSEN u. RUTTER (1952) dargestellt. Die quantitative Bestimmung des Glykogens habe ich aber nicht

nephelometrisch nach HANSEN, sondern colorimetrisch nach der Methode von DISCHE-POPPER (1926) durchgeführt.

Nach dieser Methode wurde das durch festes CO_2 völlig erstarrte Gewebe zermörsert und mit 30%iger Kalilauge — je Biene wurden 2 cm^3 30%ige Kalilauge zugegeben — durch $\frac{3}{4}$ Std langes Erhitzen im Wasserbad extrahiert. Die Fällung des Glykogens aus dem Filtrat erfolgte mit $3,2 \text{ cm}^3$ eines Äthylalkoholkochsalzgemisches (Verh. 7:1, 2%ige Kochsalzlösung); eine Nachfällung des Glykogens mit weiterem Äthylalkoholkochsalzgemisch fiel negativ aus. Filtrat und zugefügtes Äthylalkoholkochsalzgemisch wurden durch einen leichten Sauerstoffstrom mittels einer Kapillare gemischt, kurz dem Wasserbad bis zur Blasenbildung überlassen und dann zur vollständigen Fällung des Glykogens 3 Std in den Kühlschrank gestellt.

Die nach Abzentrifugieren und Auswaschen mit 95%igem Äthanol und Äthyläther gewonnene feinkörnige Substanz wurde nun in 10 cm^3 heißem destilliertem Wasser suspendiert. Die Probe auf etwa zurückgebliebene Eiweiße durch unvollständige Kalilaugezerersetzung fiel sowohl mit der qualitativen Ninhydrinreaktion (KRAMER 1952) als auch der quantitativen Biuretreaktion negativ aus.

Die colorimetrische Bestimmung des Glykogens wurde der nephelometrischen Bestimmung aus folgenden Gründen vorgezogen:

a) Das nach HANSEN weiter beschriebene Auswaschen der gefällten Substanz aus dem Äthylalkoholkochsalzgemisch mit destilliertem Wasser zeitigt erhebliche Glykogenverluste, da ja Polysaccharide infolge ihres hohen Molekulargewichts in Wasser kolloidale Lösungen bilden, die mit der vorliegenden Zentrifuge nur in geringem Maße abzentrifugiert werden können. Außerdem liegt das Glykogen in der Zelle als Eiweiß-Glykogen-Symplex in 2 Formen vor, als ein lösliches Lyo- und ein unlösliches Desmoglykogen (WILLSTÄTTER u. ROHDEWALD 1934).

Bei der Isolation der Symplexe (WILLSTÄTTER u. ROHDEWALD) zeigt sich keine konstante chemische Verbindung, sondern die Symplexe stellen lockere Additionsprodukte wechselnder Zusammensetzung dar. Die unterscheidende Eigenart dieser Glykogene findet ihren Ausdruck in verschiedenen Molekulargewichten, besonders aber in der mehr oder minder großen Einheitlichkeit ihrer Zusammensetzung.

b) Der durch Abzentrifugieren zurückgebliebenen kleinen Glykogenmenge wird nach HANSEN das Alkoholkochsalzgemisch und 1%iges Dreft (Natriumlaurylsulfonat) zugefügt. Trotz dieser Dreft-Zugabe, die ein Ausflocken und Absinken der Glykogenteilchen in gewissem Maße verhütet, verändert sich die Glykogenlösung mit der Zeit, da durch die Erwärmung des Glases (Becherglasnephelometer) bei länger dauernden Bestimmungen die Glykogenteilchen in kleinen Zeitabständen verschiedene Dispersionswerte ergeben.

Glykogen läßt sich ohne vorherige Hydrolyse nach DISCHE-POPPER colorimetrisch bestimmen, da die Polysaccharide die gleiche Farbstärke ergeben wie dieselbe Menge Monosaccharide, die sich nach der Hydrolyse ergeben würden. Die colorimetrischen Extinktionswerte bleiben zudem auch bei mehreren hintereinanderfolgenden Messungen die gleichen, da die durch Zugabe von Alkoholindolösung und Schwefelsäure p. A. entstandene rotbraune Farbe bis zu 2 Std lang unverändert hält. So wurde dem in 10 cm^3 destilliertem Wasser colloidal gelöstem Glykogen eine bestimmte Menge entnommen, die nach Zugabe der unten angegebenen Substanzen und quantitativer Bestimmung einen colorimetrischen Wert ergab, der im Bereich der mit Glukose-Standard hergestellten Eichkurve lag.

Diese Menge wurde mit destilliertem Wasser auf 10 cm^3 aufgefüllt, und es wurden 9 cm^3 Schwefelsäure p. A. (Verhältnis $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O} = 155:65$) und nach Abkühlung $0,3 \text{ cm}^3$ 2%ige Indolösung zugefügt. Das Gemisch zeigte nach 10 min langem Erhitzen die Braunrotfärbung.

Die quantitativen colorimetrischen Messungen wurden sowohl für Glykogen als auch für Gesamtkohlenhydrat mit Hilfe des Zeiss-Spektralphotometers durchgeführt. Alle Messungen erfolgten gegen destilliertes Wasser als Blindwert.

2. Gesamtkohlenhydratbestimmung. Die Gesamtkohlenhydratbestimmung erfolgte nach vorheriger Hydrolyse mit 2,2%iger Salzsäure, ebenfalls nach DISCHE-POPPER. Die Ausfällung der Eiweißabbauprodukte und Purinbasen erübrigt sich.

II. Histochemische Methodik

Um eine Übersicht über die intrazelluläre Lokalisation des Glykogens im Bienenorganismus zu bekommen, arbeitete ich im weiteren nach der histochemischen Methode nach BAUER (BOMEIS 1948). Die Möglichkeit, das Glykogen histochemisch nachzuweisen, beruht auf dem Vorhandensein unlöslicher Glykogen-Eiweiß-Symplexe (STAUDINGER 1948). Ob das nicht an Eiweiß gebundene Glykogen mit dargestellt wird, scheint nicht bekannt zu sein. Die Methode nach BAUER hat den Vorzug, daß durch die Einwirkung der Chromsäure das Glykogen mit fuchsin-schwefeliger Säure eine feste Farbverbindung eingeht. Es tritt bei dieser Methode ebenso wie bei der Bestehen histochemischen Glykogenbestimmung mit der Fixierung nach CARNOY eine gewisse Dislokalisierung des Glykogens ein. Durch Verwendung kleiner Organstücke, die ein rasches Eindringen des Fixationsmittels möglich machen, wird die Dislokalisierung jedoch ziemlich behoben. Damit das Glykogen nicht durch wäßrige Flüssigkeiten aus den Paraffinschnitten gelöst werden kann, werden die Schnitte nach dem Aufkleben und Entparaffinieren mit einer dünnen Schicht Zelloidin überzogen.

Um die Glykogenspezifität zu prüfen, wandte ich sofort nach dem Entparaffinieren des Schnitts die Speichelprobe an, die bei längerem Einwirken einen enzymatischen Glykogenabbau zur Folge hat. Gegenüber dem unbehandelten Präparat zeigt ein fermentativ behandeltes keine Färbung mehr mit fuchsin-schwefeliger Säure (Abb. 1).

C. Der normale Glykogen- und Gesamtkohlenhydratgehalt von *Apis mellifica*

Der normale Glykogen- und Gesamtkohlenhydratgehalt — unter Gesamtkohlenhydrat verstehe ich die frischresorbierten Zucker der Gewebe, die Abbauprodukte des Glykogens und das Glykogen selbst —

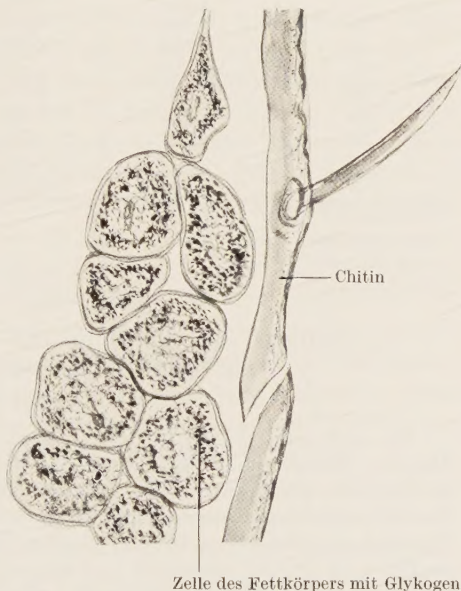


Abb. 1. Fettkörperanlagerung an die Chitinschicht des Abdomens. Glykogenanhäufung in den einzelnen Fettkörperzellen

einer vom Stock abgefangenen Arbeiterin läßt sich im Überblick darstellen als Mittel aus sämtlichen Altersstadien der Biene. Unberücksichtigt bleiben dabei die frischgeschlüpften Imagines, da bei ihnen wegen

des hohen Energieverbrauchs während des Pupalstadiums der Gesamtkohlenhydrat- und besonders der Glykogengehalt abnormal gering ist.

Der normale Gehalt an Glykogen beträgt also 2,042 mg je Biene, der an Gesamtkohlenhydrat 5,654 mg je Biene. Der prozentuale Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydratgehalt liegt demnach bei 36 %.

Tabelle 1

Alter in Tagen	Glykogen Mittelwerte in mg	Gesamt- kohlenhydrat Mittelwerte in mg
1	1,454	4,401
4	1,602	4,738
8	1,783	5,267
12	1,887	5,433
16	2,159	5,738
20	2,259	5,995
24	2,361	6,313
28	2,533	6,387
32	2,342	6,520
Durchschnitt der angeführ- ten Mittel- werte in mg	2,042	5,654

D. Einflüsse, die die Höhe des Gesamtkohlenhydratgehalts und des Glykogengehalts bestimmen

I. Alter

Um eine Abhängigkeit des Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalts vom Alter der Bienen festzustellen, verarbeitete ich Bienenarbeiterinnen vom Schlüpfen der Imago bis zum Alter von 32 Tagen in Abständen von je 4 Tagen. Das Alter der Tiere konnte in der Weise ermittelt werden, daß gedeckelte Brutwaben in den Thermostaten gebracht und die geschlüpften Tiere alle 24 Std der Wabe entnommen wurden. Sie wurden gezeichnet und hernach einem gut bevölkerten Bienenstock zugesetzt. Da die Altersbestimmungen so wenig wie möglich vom Aktivitätszustand der Tiere beeinflußt werden sollten, entnahm ich die Versuchstiere morgens oder abends, da die Bienen um diese Zeit am wenigsten aktiv sind. An Schlechtwettertagen, die im Frühsommer 1955 häufig waren, habe ich dem Stock keine Tiere entnommen.

Es war schwierig, die für die Statistik erforderliche Bienenmenge der späten Altersstadien zu bekommen, denn die alten Tiere waren nur noch vereinzelt im Stock anzutreffen. Damit ich vergleichende Versuche in verschiedenen Monaten machen konnte, wurden deshalb Tiere, die älter als 32 Tage waren, nicht mehr auf Glykogen und Gesamtkohlenhydrat untersucht. Um noch ältere Versuchstiere in genügender Menge zu bekommen, hätte ich zu viele frisch-geschlüpfte Tiere dem Stock zugeben müssen; das Stockgefüge sollte aber letzten Endes nicht durch übermäßigen Einsatz von Jungtieren in anormale Zustände gebracht werden.

Die Versuche, die ich in den Monaten Juli, August, September 1955 durchgeführt habe, zeigten, daß der Glykogen- und der Gesamtkohlenhydratgehalt mit steigendem Alter zunehmen. Sowohl STRAUS (1911) als auch MELAMPI und OLSAN (1940) fanden eine starke Abnahme des Glyko-

gens und Gesamtkohlenhydratgehalts während des Puppenstadiums der Biene. STRAUS fand bei der eben geschlüpften Imago einen Glykogenwert von 1,5 mg je Tier. MELAMPI fand 1 mg je Tier. Der Durchschnitt meiner 3 Versuchsreihen Juli, August, September zeigte einen Glykogengehalt von 1,35 mg und einen Gesamtkohlenhydratgehalt von 3,83 mg je Biene. Meine Werte stimmen demnach in der Größenordnung mit denen der anderen Autoren überein.

Während der ersten 4 Tage nach dem Schlüpfen der Bienen steigt der Glykogen- und Gesamtkohlenhydratgehalt nur um wenig an. Für ihre Aufgabe, freigewordene Brutzellen zu säubern und die Larven und Puppen bei Abkühlung warmzuhalten (RÖSCH 1926) benötigen sie offenbar keine große Energiezufuhr in Form von Kohlenhydraten (Abb. 2).

Im Alter von 8—12 Tagen steigt der Gesamtkohlenhydratgehalt bis zu 5,4 je Tier, die Glykogenmenge bis zu 1,8 mg je Tier an. Die Biene holt während dieser Zeit nun selbst Honig und Pollen aus den Vorratzzellen und stellt den Futterbrei für die Larven her. Für die Herstellung des Futterbreis ist die Pharynxdrüse verantwortlich. Die Drüse sondert einerseits proteolytische Fermente ab (INGLESEN 1940) und sezerniert andererseits ein glukoseoxydierendes Ferment (GAUHE 1940). SCHREINER (1941) bemerkt, daß das Zuckerwasser bei Ammen schneller in den Mitteldarm eintritt als bei jungen Bienen. Die Voraussetzung einer stärkeren Kohlenhydratresorption und eines intrazellulären Umbaus in arteigene Kohlenhydratsubstanzen ist hiermit gegeben. Zwischen dem 12. und 16. Tag nimmt der Glykogenspiegel wiederum um 0,272 mg zu, während der Gesamtkohlenhydratgehalt um 0,305 mg ansteigt. Es ist dies die Phase der Orientierungsflüge und Wächtertätigkeit. Die Flugleistung der Tiere erhöht sich nun weiter auf Grund eines allmählichen Anstiegs der Kohlenhydratsubstanzen, die zur Zeit der Sammeltätigkeit der Bienen bei 20, 24, 28 und 32 Tage alten Tieren ihren Höhepunkt erreicht. Der Glykogengehalt hat bei 28 Tage alten Bienen ein Maximum von 2,533 mg je Tier, der Gesamtkohlenhydratgehalt eine Höhe von 6,3 mg je Tier erreicht (Abb. 2).

Die Feststellung, daß der prozentuale Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydratgehalt während der späten Altersstadien im September wesentlich höher ist als im Juli und August, läßt sich dadurch erklären, daß die späten Septemberbienen im Glykogengehalt zwischen Sommer- und Winterbienen stehen. Während der prozentuale Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydratgehalt der Sommerbienen zwischen 30 und 38% liegt, variiert der der Winterbienen zwischen 63 und 70%. Nur bei besten Wetterverhältnissen sieht man Ende September noch gedeckelte Brutwaben. Die Königin stellt um diese Zeit ihre Legetätigkeit ein. Der Nachschub an Jungtieren fehlt also. Es sind die späten Altersstadien der Septemberbienen die noch ihre Sammeltätigkeit verrichten, später

aber durch Heizen und Aufzucht der ersten Frühlingsbrut den Stock erhalten müssen. So nehmen sie stoffwechselphysiologisch ebenfalls eine

Übergangsstellung zwischen Sommer- und Winterbienen ein.

Die Streuung der Einzelwerte, die ich bei sämtlichen Versuchen zunächst in Milligramm und dann in Prozent vom Mittelwert bestimmte, variiert in den verschiedenen Altersstadien. Ich fand bei dem Gesamtkohlenhydratgehalt Streuungen von rund 2—6%, bei dem Glykogengehalt von rund 1—5%. Das Streuungsmaximum stellt sich bei Flugbienen ein (Abb. 3). Dieses Maximum läßt sich daraus erklären, daß die Flugbienen bei verschiedener Tätigkeit einen verschieden großen Energiebedarf haben. Zwei Bienen, von denen die eine eben eifrig gesammelt hat, die andere sich eben zum Ausflug anschickt und eine dritte nach außen hin beschäftigungslos erscheint und nur bei der Temperaturregelung des Stockes mithilft (LINDAUER 1952), zeigen einen

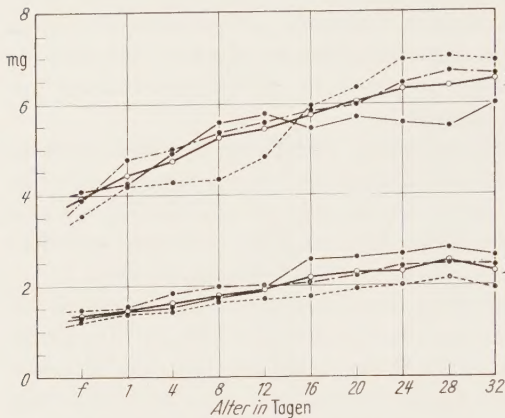


Abb. 2. Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalt der Bienen in den Monaten Juli, August, September und Mittelwertkurve aller 3 Monate. Juli: ●---●; August: ○---○; September: ●—●. Mittelwert: ○—○. Gesamtkohlenhydrat: I; Glykogen: II

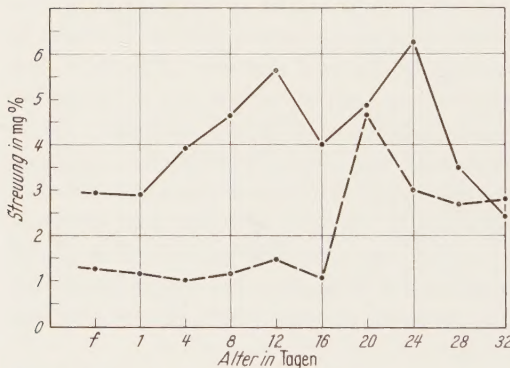


Abb. 3. Streumittelwerte in (mg-%) des Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalts der Sommermonate. Streuungskurve des Glykogens: ---, Streuungskurve des Gesamtkohlenhydrats: —

ganz verschiedenen Energieverbrauch, der sich im unterschiedlichen Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalt äußert.

II. Jahreszeit

Vergleich von Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalt bei Winter- und Sommerbienen (Abb. 2 und 4). Die Versuche im Oktober, November, Dezember, Januar und März sollten einen Vergleich des Gesamt-

kohlenhydrat- und Glykogengehalts zwischen Winter- und Sommerbienen ermöglichen.

Der Gesamtkohlenhydratgehalt erfährt im Oktober schon eine Abnahme von 6 auf 5 mg, die sich im November noch verstärkt, um dann während der Wintermonate auf einem durchschnittlichen Niveau von 3,2 mg je Biene zu bleiben.

Der Glykogengehalt der Winterbienen schließt sich dem der Flugbienen der Sommermonate mit durchschnittlich 2,2 mg je Biene an und

bleibt während des ganzen Winters ziemlich gleich (Abb. 4). Der prozentuale Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydrat ist mit 66,8% im Vergleich zu den Sommermonaten wesentlich gestiegen. Die Streuung des Kohlenhydratgehaltes der Winterbienen liegt zwischen 1 und 6%. Der besonders hohe Streuungswert von 7,6% im März kann darauf beruhen, daß die Bienen wegen des sonnigwarmen Wetters schon flugtüchtig waren und die Streuung bei Flugbienen deshalb höher ist. Nachdem die Flugleistung der Winterbienen annähernd Null zu setzen ist, der Glykogengehalt aber trotzdem den Wert der Sommermonate beibehält, liegt folgende Frage vor.

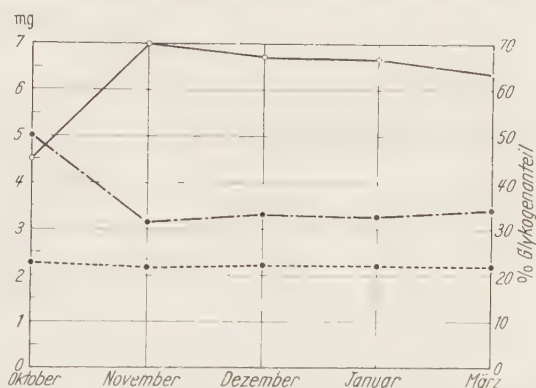


Abb. 4. Glykogen- und Gesamtkohlenhydratwerte und prozentualer Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydratgehalt bei Winterbienen der Monate Oktober, November, Dezember, Januar und März. Glykogen: ●---●; prozentualer Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydrat:; Gesamtkohlenhydrat: ●—●

Welche Funktion hat das Glykogen in der Winterbiene? MOGILA (1937) berichtet, daß Glykogen erst am 30. Tage im Fettkörper der Winterbiene erscheint und zwischen dem 50. und 60. Tag besonders stark vertreten ist.

Ich konnte in meinen histochemischen Versuchen bei Winterbienen ebenfalls eine starke Anhäufung des Glykogens im Fettkörper nachweisen (Abb. 1).

Das Glykogen ist also offenbar von der Funktion eines Energielieferanten im Muskel zu der eines Energiespeichers im Fettkörper übergegangen. Nach MOGILA stehen die zellulären Veränderungen in engem Zusammenhang mit den Lebensgewohnheiten der Tiere, die nach seinen Angaben vom 40. bis zum 50. Tag die Vorbereitung zur Überwinterung treffen.

Der niedere Gesamtkohlenhydratgehalt der Winterbienen zeigt, daß der Kohlenhydratstoffwechsel auf ein Minimum herabgesetzt ist; der prozentuale Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydratgehalt erreicht jetzt 66,8%. Die Blutzuckercurve der Arbeitsbienen aus dem Stock im Verlauf des Jahres deutet ebenfalls auf einen niederen Kohlenhydratstoffwechsel während der Wintermonate hin (BEUTLER 1936). USCHATINSKAJA (1952) erwähnt, daß bei seinen Versuchen während der Monate Juli bis November an Larven und Imagines von *Pieris brassicae*, *Pyrrhocoris apterus* vor der Überwinterung neben einer erheblichen Zunahme des Fettgewichts auch eine starke Vermehrung des Glykogens erfolgt.

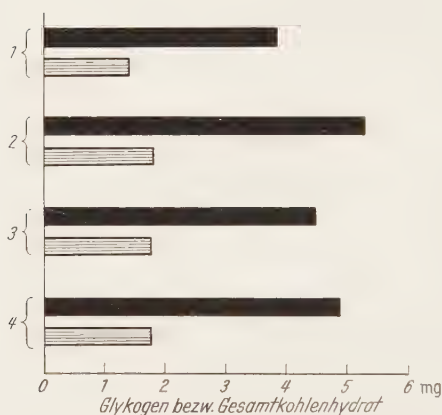


Abb. 5. Glykogen- und Gesamtkohlenhydratgehalt von: 1. frischgeschlüpften Bienen; 2. Ammen; 3. Pollensammlerinnen; 4. Nektarsammlerinnen. Gesamtkohlenhydrat: Glykogen:

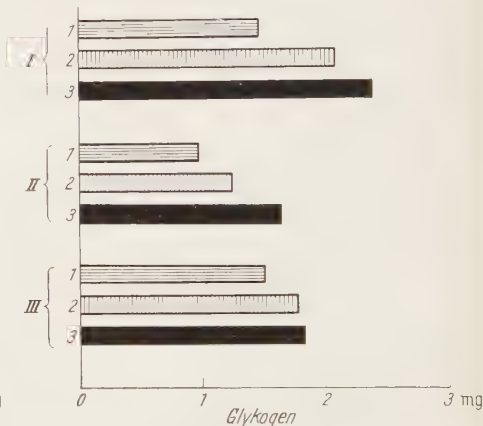


Abb. 6. Glykogengehalt des Darms (I). Glykogengehalt der Thoraxmuskulatur (II). Glykogengehalt der Honigblase (III). Von: 1. 5 frisch geschlüpften Bienen ; 2. 5 Ammen ; 3. 5 Flugbienen

III. Tätigkeit

1. Frischgeschlüpfte Imagines. Als frischgeschlüpfte Bienen bezeichne ich diejenigen Imagines, die den Wachsdeckel der Zelle gerade aufbeißen. Der Glykogengehalt beträgt 1.34 mg, der Gesamtkohlenhydratgehalt 3.83 mg je Biene. Die Werte sind das Mittel aus 30 Analysen (Abb. 5). Die folgenden Organuntersuchungen bestätigen im allgemeinen Glykogenmangel im ganzen Tier (Abb. 6). Ihren Kohlenhydratreserven nach, die durch dauernden Energieverbrauch während des Puppenstadiums abnehmen, kommt eine frischgeschlüpfte Biene annähernd einer 8 Std hungernden Biene gleich, deren Glykogengehalt nach histochemischen Untersuchungen in den Organen ebenfalls minimal ist. (Vergleiche Abb. 7 mit Abb. 8.) Beide zeigen eine Muskelschwäche (Flugunfähigkeit), die wohl auf Glykogenmangel zurückzuführen ist.

WIGGLESWORTH (1950) erwähnt in seiner zusammenfassenden Darstellung über den Kohlenhydratstoffwechsel bei Insekten, daß bei *Drosophila* im Flug bis zur Erschöpfung ebenfalls nahezu alles Glykogen verbraucht wird. Dieser Versuch bestätigt die Versuche von BEUTLER, nach denen die Bienen nicht fähig sind, nach Erschöpfung der Kohlenhydratreserven ihren Energievorrat aus Eiweiß- oder Fettvorräten zu decken.



Abb. 7. Glykogen im Darmepithel einer Hungerbiene. Die Glykogengranula lagern in der Zellkernregion

2. Ammen. Nach der Präparation der Pharynxdrüse aus der rechten Hälfte des Kopfes von Arbeiterinnen konnte ich feststellen, daß die Drüse vorherrschend bei 8 Tage alten Tieren maximal sezerniert. Der Glykogengehalt von Bienen dieses Alters betrug 1,783 mg, der Gesamtkohlenhydratgehalt 5,26 mg je Tier. Die Werte sind wieder das Mittel aus je 30 Untersuchungen, die ich über die Monate Juli, August und September hin gemacht habe (Abb. 5).



Abb. 8. Glykogengranula in der Zellkernregion des Darmepithels einer normal ernährten Biene

3. Pollen- und Nektarsammlerinnen. Flugbienen sind fähig, mehrere Aufgaben dem jeweiligen Bedürfnis des Bienenvolkes entsprechend auszuführen (LINDAUER 1952). Um eine Glykogen- und Gesamtkohlenhydratabhängigkeit vom jeweiligen Tätigkeitszustand festzustellen, habe ich beispielsweise Pollen- und Nektarsammlerinnen untersucht. Auf einer am Flugloch angebrachten Laufrinne konnte ich die anfliegenden Tiere gut unterscheiden und abfangen. Der den Tieren anhaftende Pollen wurde vor der Bestimmung entfernt; Darm- und Honigblaseninhalt wurde — wie bereits angegeben — mehrmals in Äthylalkohol

ausgewaschen. Ein Vergleich von Gesamtkohlenhydrat- und Glykogenwerten von Pollen- und Nektarsammlerinnen, die den Stock anfliegen, erwies sich als nahezu übereinstimmend (Abb. 5).

IV. Glykogengehalt der einzelnen Organe

Um über die quantitative Glykogenverteilung in verschiedenen Organen von frischgeschlüpften, 8 Tage alten und 30 Tage alten Bienen Aufschluß zu bekommen, nahm ich für jede Glykogenbestimmung 5 Organe. Die Altersabstände wurden so gewählt, daß angrenzende Tätigkeitsbereiche ausgeschaltet waren.

V. Präparation der Organe

Bei der Präparation der Bienen unter dem Binokular entfernte ich die Thoraxdrüse. Während es möglich war, die Drüse mit ihren Gängen zu entfernen und die Muskeln vom Chitin zu säubern, konnte ich die einzelnen Nerven nicht aus den Muskelfasern herausfinden. Die Bestimmungen beziehen sich daher auch auf die in der Thoraxmuskulatur enthaltenen Nerven.

Zur Analyse wurden Mittel- und Enddarm bis zur Kotblase verwendet. Die Malpighischen Gefäße konnten nur unvollständig vom Darm getrennt werden. Ich zog es deshalb vor, sie mit dem Darmsystem zusammen auf Glykogen zu bestimmen.

Zur Glykogenbestimmung verwendete ich die Honigblase ohne Oesophagus und trennte das Darmsystem nach dem Zwischendarmkopf ab.

1. Frischgeschlüpfte Imagines. Bei diesen Versuchen zeigte besonders die Thoraxmuskulatur einen geringen Glykogengehalt. Ich beobachtete beim Präparieren, daß die Muskelfasern der frischgeschlüpften Imagines äußerst zart sind und im Gegensatz zu den festen rosafarbenen Muskelfasern älterer Tiere eine gelbliche Färbung aufweisen. Diese äußeren Merkmale lassen bereits darauf schließen, daß die Muskulatur noch nicht völlig einsatzbereit ist. Der ebenfalls sehr niedere Glykogengehalt von Darm und Honigblase zeigt, daß der Kohlenhydratbestand nicht nur im Muskel, sondern im ganzen Tier gering ist (Abb. 6).

2. 8 Tage alte Tiere. Der Darmabschnitt, die Thoraxmuskulatur und die Honigblase zeigen höhere Glykogenwerte gegenüber den Organen frischgeschlüpfter Bienen (Abb. 6). Die Zunahme ist besonders deutlich beim Darmsystem. Durch die Futtersaftbereitung während der Ammenzeit liegt im Darmsystem offenbar ein größerer Kohlenhydratumsatz vor. Hingegen vermehrt sich das Glykogen in der Thoraxmuskulatur und Honigblase nur in geringem Maß.

3. 30 Tage alte Flugbienen. Es zeigt sich eine besonders deutliche Glykogenzunahme in der Thoraxmuskulatur (Abb. 6).

WILLIAMS gibt einen gesteigerten Glykogenstoffwechsel im Thorax von der fliegenden *Lucilia sericata* an. Demzufolge ist nach seinen Versuchen das Thoraxglykogen als Energiespeicher für die Flugleistung

anzusehen. Außer dem Blutzucker und der Honigblasenfüllung dürfte das Muskelglykogen auch bei Flugbienen einen Energievorrat darstellen.

E. Einfluß des Alters auf Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalt bei Drohnen

Ich untersuchte 1, 5, 9 und 13 Tage alte Drohnen auf Glykogen- und Gesamtkohlenhydratgehalt. Je Altersstufe wurden wieder je 10 Tiere analysiert. Sowohl Gesamtkohlenhydrat- wie auch Glykogengehalt steigen auch bei Drohnen mit zunehmendem Alter an.

Der Gesamtkohlenhydratgehalt erfährt zwischen 1 und 13 Tagen eine Zunahme von 4,4 auf 9,9 mg, der Glykogengehalt von 1,7 auf 2,1 mg je Tier. Die einzelnen Individuen zeigen Streuungen vom Mittelwert im Gesamtkohlenhydratgehalt von durchschnittlich 3,6%, im Glykogengehalt von durchschnittlich 0,95% (Abb. 9).

Da die Drohnen vor dem Hochzeitsflug nur kleine Orientierungsflüge unternehmen, ist es erklärlich, daß das Glykogen als Energiespeicher gegenüber dem Gesamtkohlenhydrat sehr in den Hintergrund tritt. Der prozentuale Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydrat beträgt demnach nur 27,2%.

Ob unmittelbar vor dem Hochzeitsflug eine Glykogensteigerung stattfindet, konnte ich nicht feststellen.

F. Vergleichsanalysen auf Glykogen und Gesamtkohlenhydratgehalt bei 1 Tage alten Königinnen, Drohnen und Arbeiterinnen

Der Glykogengehalt von Drohnen und Arbeiterinnen ist etwa gleich und beträgt, als Durchschnittswert aus allen Alterstadien, 1,5—2,5 mg je Tier. Da die Drohne viel größer ist, hat sie prozentual weniger Glykogen als die Arbeiterin.

Vergleicht man den Glykogengehalt von 1 Tag alten Arbeiterinnen, Drohnen und *Königinnen*, so steht der der *Königinnen* mit 1,92 mg an der Spitze, der Drohnen mit 1,71 mg an mittlerer und der Arbeiterinnen mit 1,45 mg je Tier an unterster Stelle. Für den Gesamtkohlenhydratgehalt liegen dieselben Verhältnisse vor:

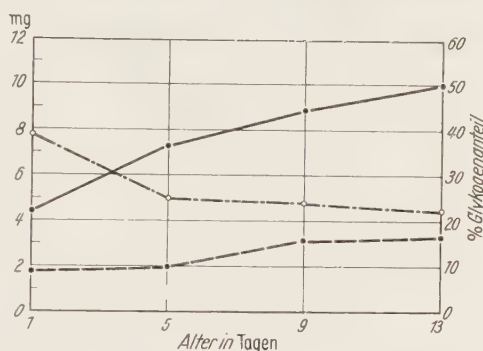


Abb. 9. Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalt bei Drohnen verschiedener Altersstadien. Prozentualer Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydrat. Gesamtkohlenhydrat: —●—●; Glykogen: —●—●; prozentualer Glykogenanteil: —○—○

Tabelle 2

	Königin	Drohne	Arbeiterin	
Glykogen in mg	1,925	1,718	1,457	Abb. 10
Gesamt-KH in mg	5,370	4,410	4,401	

Bei Tieren hat das Geschlecht in der Regel keinen Einfluß auf die Höhe des Blutzuckerspiegels (BEUTLER 1939). Bei den Bienen liegen die Verhältnisse nach BEUTLER anders. Die Königinnen be-

sitzen bis zur Begattung vorwiegend einen Zuckerstoffwechsel. Der Blutzuckergehalt liegt demnach bei unbegatteten Königinnen höher als bei begatteten.

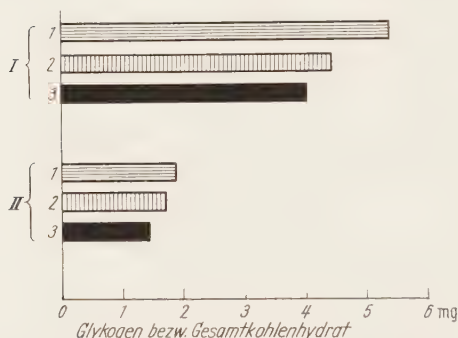


Abb. 10. Gesamtkohlenhydrat- und Glykogengehalt von einer 1 Tage alten Königin (I); Drohne (II); Arbeiterin (III). I Gesamtkohlenhydratgehalt; II Glykogengehalt

Um hinsichtlich des Glykogen- und Gesamtkohlenhydratgehalts zu ähnlichen Ergebnissen zu gelangen, hätte ich meine Versuchsreihen auf weitere Altersstufen ausdehnen müssen. Das Versuchsmaterial hierzu fehlte mir jedoch (Abb. 10).

G. Histochemische Hinweise über die Lagerung des Glykogens im Darmsystem und der Muskulatur

I. Darmsystem

Die peritrophischen Membranen stellen eine vielfache Scheidewand zwischen den unverdauten Nahrungsstoffen im Darm und der Darmwand her. Die peritrophischen

Hüllen im vorderen Teil des Mitteldarms umhüllen die Nahrungspartikel und lassen die Verdauungsfermente durch. Die aufgeschlossenen Nahrungsstoffe werden dann im weiteren Bereich des Mitteldarms z. B. als einfache Zucker von den peritrophischen Hüllen, die sich ihrer Fermente entledigt haben, absorbiert. Im hinteren Darmabschnitt tritt dann erst die Resorptionstätigkeit



Abb. 11. Glykogen in den Malpighischen Gefäßen. Querschnitt durch ein einzelnes Gefäß

der Darmwand ein. ARMBRUSTER (1931) teilt das Mitteldarmsystem demzufolge in einen sezernierenden und resorbierenden Abschnitt. Auch WIGGELSWORTH (1950) betont eine Arbeitsteilung der verschiedenen Mitteldarmabschnitte.

Das Glykogen lagert bei den Bienen in den Epithelzellen des Mittel- und Dünndarms (Abb. 8). Bei den Darmquerschnitten wurden auch die Malphigischen Gefäße miterfaßt. Ich konnte auch dort Glykogen nachweisen. Auch WIGGELSWORTH deutet auf eine Glykogenbildung in den Malphigischen Gefäßen hin, er vermutet sogar in ihnen eine Glykogenspeicherung (Abb. 11).

II. Honigblasenwand

Die Honigblasenwand besteht aus einer dünnen Epithelschicht mit einer chitininigen Intima innen und einer gut ausgebildeten Rings- und Längsmuskulatur außen. Bei den Schnitten ist die Wand stets stark gefaltet, so daß sich die Epithelstruktur oft nur schwer erkennen läßt. Die Muskulatur preßt den Inhalt aus der Honigblase in das sich anschließende Darmlumen. Wegen der starken Kontraktionsarbeit sind die Muskelfasern stets auf Energiezufuhr angewiesen. Deshalb finden sich auch hier starke Glykogenanhäufungen in beiden Muskellagen. In der Epithelschicht selbst konnte ich nur sehr wenig Glykogen in Gestalt feinsten Granula nachweisen. Manche schwach rosa gefärbte Stellen dürften von Diffusion aus der stark gefärbten Muskulatur zurückzuführen sein (Abb. 12).



Abb. 12. Glykogen in der Muskulatur der Honigblasenwand

III. Thoraxmuskulatur

Bei den Insekten bestehen die Fasern der Thoraxmuskulatur in ihrem Feinbau aus parallelen Bündeln von Sarkostylen mit dazwischenliegendem Sarkoplasma. Die Anordnung der Fibrillen in Sarkostylen steht wahrscheinlich mit der funktionellen Vervollkommenung der Fasern in Zusammenhang. Die für die Sarkostyle charakteristischen Querstreifungen beruhen wie bei der Wirbeltiermuskelfaser auf der periodischen Reihenfolge von isotropen und anisotropen Zonen (BRUNO 1932).

Abgesehen von der Bündelung der Fibrillen zu Sarkostylen kommt die Muskelfaser der Insekten in der morphologischen Struktur der Wirbeltiermuskelfaser nahe.

Das Muskelglykogen der Säuger liegt nicht nur in einem Zustand vor. Der größte Teil ist an das Myosin als Symplex gebunden, doch auch das Globulin-X bindet Glykogen, wenn auch nur in geringem Maße. MYSTKOWSKY (1935) gibt folgende Zahlen über die Bindung des Muskelglykogens an Myosin und Globulin-X an:

	Eiweiß mg	Glykogen mg
Myosin:	303,9	78,4
Globulin-X:	17,0	28,4

Über die Bindung des Glykogens an Eiweiß im Insektenmuskel ist nichts bekannt.

Wie lagert nun das Glykogen in der quergestreiften Muskelfaser?

GENDRE (1938) führte histochemische Versuche nach BAUER und BEST an quergestreiften Muskeln bei weißen Ratten durch. Das Glykogen liegt nach seinen Ergebnissen in Form feiner Granulae in den kontraktilen Elementen der langgestreckten Myofibrillen vor. Extrafibrilläres Glykogen fand er besonders reichhaltig beim Fötus wie auch bei jungen Tieren in Form dicker Granula. BERNHARD (1855) nimmt an, daß das extrafibrilläre Glykogen bei vollentwickelten Muskelfasern in den intrafibrillären Bereich eindringt. Bei vielen seiner Versuche beobachtete GENDRE (1937) Diffusionsbilder im muskulären Gewebe. Auch meine Thoraxmuskulature Schnitte ergaben Diffusionsbilder. Nur in der Muskulatur der Honigbiene zeigte das Glykogen zum Teil deutlich die von GENDRE erwähnte Granulastruktur in den einzelnen anisotropen Zonen der Myofibrillen (Abb. 12).

MORISON (1929) fand bei seinen histochemischen Versuchen an der erwachsenen Honigbiene kein Glykogen. Er nimmt an, daß Glukose die Funktion des Glykogens in der Muskulatur übernimmt. Danach gäbe es also keine Kohlenhydratspeicherstoffe.

Meine bio- und histochemischen Ergebnisse widerlegen diesen Befund.

Zusammenfassung

1. Der normale Glykogengehalt einer Arbeiterin von *Apis mellifica* (ohne Honigblasen- und Darminhalt) beträgt 2 mg, der Gesamtkohlenhydratgehalt 5,6 mg. Der prozentuale Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydratgehalt beträgt 36%.

2. Mit steigendem Alter nimmt der Glykogen- und Gesamtkohlenhydratgehalt der Biene zu und erreicht während der Flugzeit sein Maximum.

3. Der Glykogengehalt der Winterbienen entspricht annähernd dem der Flugbienen der Sommermonate, während der Gesamtkohlenhydratgehalt sinkt. — Das Glykogen der Winterbienen dient als Energiespeicher und findet sich vor allem im Fettkörper.

4. Die frischgeschlüpfte Biene hat einen sehr geringen Kohlenhydratgehalt. Die Glykogenwerte des Darmes und der Thoraxmuskulatur sind ebenfalls sehr gering.

5. Bei der Amme steigt der Glykogengehalt. Die Zunahme des Glykogens im Darmsystem tritt gegenüber der Zunahme in der Thoraxmuskulatur weit in den Vordergrund.

6. Der Glykogen- und Gesamtkohlenhydratgehalt nahm auch bei Drohnen mit steigendem Alter zu. Der prozentuale Glykogenanteil am Gesamtkohlenhydrat betrug nur 27%.

7. Von gleichaltrigen (1 Tag) Königinnen, Drohnen und Arbeiterinnen hatten die ersteren den größten, die letzteren den geringsten Gehalt an Glykogen und Gesamtkohlenhydrat.

8. Die verschiedene Sammeltätigkeit von Pollensammlerinnen und Nektarsammlerinnen hatte bei heimkehrenden Bienen keinen Einfluß auf den Glykogen- und Gesamtkohlenhydratgehalt.

9. Das Glykogen wird im Darmepithel, der Thoraxmuskulatur, der Honigblasenwand und bei der Winterbiene auch reichlich im Fettkörper gespeichert. Die Speicherung erfolgt in Form feiner Granula, in der Muskulatur erscheinen oft Diffusionsbilder. Die Myofibrille enthält feine Granula in der anisotropen Schicht.

Literatur

- AMBRUSTER, L.: Nahrung, Verdauung und Stoffwechsel der Bienen. In Handbuch der Ernährung und des Stoffwechsels der landwirtschaftlichen Nutztiere, Bd. III. 1931. — BENAZZI, L.: Über die Verteilung des Glykogens und die echte Glykämie bei den Wirbellosen. Arch. Zool. ital. **29**, Suppl. 5, 35 (1941). — BERNARD, E.: Leçons de Physiologie, tom. I—II, p. 273. Paris: Baillière 1855. — BEUTLER, R.: Über den Blutzucker der Bienen. Z. vergl. Physiol. **24**, 71 (1936). — Vergleichende Betrachtungen über den Zuckergehalt des menschlichen und tierischen Blutes. Ergebn. Biol. **17**, 1 (1939). — Zeit und Raum im Leben der Sammelbiene. Naturwissenschaften **1950**, 102. — BRUNO, G.: Die Struktur der Insektenmuskelfaser. Arch. exp. Zellforsch. **12**, 355 (1932). — BUDDENBROCK, W. v.: Vergleichende Physiologie, Bd. III, 17 (1956). — CHADWICK, L., and D. GILMOUR: The oxygen consumption considered in relation to wing-rate. Physiol. Zool. **13**, 398 (1940). — DISCHE, Z., u. E. POPPER: Über eine colorimetrische Bestimmung der Kohlenhydrate in Organen und Körpersäften. Biochem. Z. **175**, 371 (1926). — EDLBACHER, S., u. F. LEUTHART: Lehrbuch der physiologischen Chemie. 1955. — EVENIUS, J.: Zum Problem der Stärkeverdauung im Darmkanal der Honigbienen. Arch. Bienenkunde **6**, 199 (1924). — Fermente im Darmkanal der Honigbiene. Arch. Bienenkunde **7**, 229 (1926). — FREUDENSTEIN, K.: Lage und Anordnung des Fettkörpers der Honigbiene. Arch. Bienenkunde **6**, 49 (1924). — FRISCH, K. v.: Orientierungsvermögen und Sprache der Bienen. Naturwissenschaften **1951**,

105. — Aus dem Leben der Bienen. 1953. — GAUHE, A.: Über ein glukoseoxydierendes Enzym in der Pharynxdrüse der Honigbiene. *Z. vergl. Physiol.* **28**, 211 (1941). — GENDRE, H.: Aspects et localisation du glycogène dans le tissu musculaire strié. *Bull. Histol. appl.* **14**, 15 (1937). — HAMMARSTEN, O., u. B. FLASCHENTRÄGER: Lehrbuch der physiologischen Chemie, Bd. II. 1956. — HANSEN, R. G., and W. J. RUTTER: A nephelometric method for the determination of glycogen. *J. biol. Chem.* **195**, 127 (1952). — INGLESANT, H.: Zymatic function of the pharyngeal, thoracic and postcerebral glands of *apis mellifica*. *Biochem. J.* **34**, 145 (1940). — KRAMER, F.: Papierchromatographie. 1952. — LINDAUER, M.: Ein Beitrag zur Frage der Arbeitsteilung im Bienenstaat. *Z. vergl. Physiol.* **34**, 299 (1952). — MELAMPI, R. M., and R. D. OLSAN: Total carbohydrate and glycogen content of the developing honeybee. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **45**, 754 (1940). — MELAMPI, R. M., u. E. R. WILLIS: Gaswechsel während des Larven- und Puppenstadiums der Honigbiene. *Physiol. Zool.* **12**, 302 (1939). — Biochemical aspects of the differentiation of the female honeybee. *Physiol. Zool.* **13**, 283 (1940). — MOGILA, M. T.: Die altersbedingten Veränderungen des Fettkörpers bei der Biene. *Bull. Biol. Méd. exp. URSS.* **3**, 630 (1937). — MORISON, G.: The muscles of the adult honeybee. *Quart. J. micr. Sci.* **71**, 563 (1928). — MYSTKOWSKI, E.: Über den Zustand des Glykogens im Muskel. *Biochem. Z.* **278**, 240 (1935). — RIBBANDS, C. R.: The behaviour and social life of honeybees. 1953. — RÖSCH, G. A.: Untersuchungen über die Arbeitsteilung im Bienenstaat. *Biol. Zbl.* **46**, 190 (1926). — ROMEIS, B.: Handbuch mikroskopischer Technik. 1948. — SCHREINER, TH.: Über die Nahrungstransportation im Darm der Honigbiene. *Z. vergl. Physiol.* **34**, 278 (1952). — STAUDINGER, H. J.: Über natürliche Glykogene. *Makromol. Chem.* **2**, 88 (1948). — STRAUS, E.: Die chemische Zusammensetzung der Arbeitsbienen und Drohnen während ihrer verschiedenen Entwicklungsstadien. *Z. Biol.* **56**, 347 (1911). — USCHATINSKAJA, W.: Verlauf einiger physiologischer Prozesse im Insektenkörper vor der Überwinterung. *Izv. Akad. Nauk. SSSR., Ser. Biol.* **1952**, Nr 1, 101. — WALLRAFF, E., u. H. BECKERT: Zur Frage der Spezifität des mikrochemischen Nachweises vom Glykogen und anderen Polysacchariden nach BAUER. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **45**, 510 (1939). — WIGGELSWORTH, V. B.: Principals of insect physiology. 1950. — WILLIAMS, C. M.: The utilisation of glycogen by flies during flight and some aspects of the physiological ageing of *Drosophila*. *Biol. Bull.* **84**, 263 (1943). — WILLSTÄTTER, R., u. M. ROHDEWALD: Über den Zustand des Glykogens in der Leber im Muskel und in den Leukocyten. *Hoppe-Seylers Z.* **225**, 103 (1934).

Dr. MARTHA JOHN, München 2, Zoolog, Institut der Universität, Luisenstr. 14

Lebenslauf

Ich wurde am 30. Juli 1930 in Überlingen/Bodensee als Tochter des Hoteliers Adolf John und Frau Anni John, geb. Müller, geboren. Ich besuchte in Überlingen vier Jahre lang die Volksschule, um dann in Überlingen in das Realgymnasium einzutreten. Im Sommer 1950 machte ich dort das Abitur, und im Wintersemester 1950/51 begann ich das naturwiss. Studium an der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg. Im Sommer 1953 setzte ich dann das naturwiss. Studium an der Ludwig-Maximilians-Universität in München fort.

